

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**Determinación de la persistencia de los niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de la peste porcina clásica en lechones nacidos de marranas con distinto programa de vacunación**

**TESIS**

**para optar el título de Médico Veterinario**

**AUTORA**

**Katherine Vanessa Portilla Jarufe**

**Lima – Perú**

**2006**

## ÍNDICE

	Págs.
RESUMEN	vii
SUMMARY	viii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE GRÁFICOS	x
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.- Antecedentes históricos de la Peste Porcina Clásica	4
2.2.- Características del virus	5
2.2.1.- Morfología	5
2.2.2.- Genoma	5
2.2.3.- Proteínas	6
2.2.3.1.- Proteínas estructurales	6
2.2.3.2.- Proteínas no estructurales	7
2.2.4.- Replicación viral	8
2.2.5.- Biotipos	10
2.2.6.- Genotipos	10
2.3.- Propiedades físico-químicas del virus	11
2.4.- Aspectos inmunológicos del virus de la Peste Porcina Clásica	11
2.5.- Epidemiología	13
2.5.1.- Distribución geográfica	13
2.5.2.- Fuentes de infección	13
2.5.3.- Métodos de transmisión	13
2.5.3.1.- Transmisión vertical	14
2.5.3.2.- Transmisión horizontal	14
2.5.4.- Epidemiología de animales persistentemente infectados	14
2.6.- Patogénia y cuadro clínico	15
2.6.1.- Infección subclínica	16
2.6.2.- Infección aguda	16
2.6.3.- Infección persistente	17
2.6.4.- Infección crónica	17
2.6.5.- Infección en hembras gestantes	18
2.7.- Diagnóstico	18

2.7.1.- Virus o antígenos virales	18
2.7.1.1.- Aislamiento viral	18
2.7.1.2.- Inmunofluorescencia	19
2.7.1.3.- ELISA de captura	19
2.7.1.4.- Inmunoperoxidasa	20
2.7.2.- Ácido nucleico viral	20
2.7.2.1.- Reacción en cadena de la polimerasa	20
2.7.3.- Anticuerpos específicos	20
2.7.3.1.- Seroneutralización	20
2.7.3.2.- ELISA convencional	21
2.7.3.3.- ELISA diferencial	21
2.8.- Prevención y control	22
2.9.- Vacunas	22
2.9.1.- Vacuna a virus vivo modificado	22
2.9.2.- Vacuna marcada	24
2.10.- Vacunación e inmunidad pasiva	25
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1.- Lugar de muestreo	26
3.2.- Sistema de manejo de las granjas	26
3.3.- Materiales	28
3.3.1.- Muestras	28
3.3.2.- Materiales de laboratorio	28
3.3.3.- Reactivos	28
3.3.4.- Equipos	29
3.4.- Métodos	29
3.4.1.- .Tamaño de muestra	29
3.4.2.- Diseño experimental	29
3.4.3.- Obtención de muestras	30
3.4.4.- Detección de anticuerpos	31
3.5.- Análisis de datos	33
IV.- RESULTADOS	34
V.- DISCUSIÓN	38
VI.- CONCLUSIONES	44
VII.- RECOMENDACIONES	45
VIII.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	46

## LISTA DE CUADROS

	Págs.
➤ <b>Cuadro 1.</b> Programa de vacunación contra diferentes agentes infecciosos aplicadas a chanchillas y marranas en las granjas en estudio.	27
➤ <b>Cuadro 2.</b> Vacunas contra la Peste Porcina Clásica en chanchillas y marranas en las granjas en estudio.	27
➤ <b>Cuadro 3.</b> Fecha de toma de muestra en lechones y marranas.	30
➤ <b>Cuadro 4.</b> Número de animales muestreados en ambas granjas	30
➤ <b>Cuadro 5.</b> Número total (n=120) de lechones de diferentes edades estudiados para la detección de anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	34
➤ <b>Cuadro 6.</b> Niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica, expresados en porcentajes de inhibición y su coeficiente de variación (CV) en los lechones según edad (semanas) de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	35
➤ <b>Cuadro 7.</b> Niveles de anticuerpos contra el virus de Peste Porcina Clásica en marranas de las granjas A y B.	37

## LISTA DE GRÁFICOS

	Págs.
➤ <b>Gráfico 1.</b> Proteínas estructurales y no estructurales del genoma viral.	8
➤ <b>Gráfico 2.</b> Replicación del virus de la Peste Porcina Clásica.	9
➤ <b>Gráfico 3.</b> Comportamiento del promedio del nivel de anticuerpos pasivos contra el vPPC en lechones de las granjas A y B, expresados en porcentajes de inhibición mediante la prueba de ELISA de bloqueo.	35
➤ <b>Gráfico 4.</b> Número de muestras positivas a anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en lechones de la granja A (madres vacunadas pre-parto), según edad.	36
➤ <b>Gráfico 5.</b> Número de muestras positivas a anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica en lechones de la granja B (madres vacunadas post-parto), según edad.	36

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la persistencia de los anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica (vPPC) en lechones de dos granjas tecnificadas A y B con distintos programas de vacunación contra el vPPC. En la granja A, las marranas son vacunadas a los 90 días de gestación y en B a los 18 a 21 días post-parto. Se colectaron 60 muestras de sangre de lechones por granja, durante la primera (n=15), tercera (n=15), quinta (n=15) y séptima (n=15) semana de edad, así como de las marranas (n = 15) de cada granja para la detección de los anticuerpos mediante la prueba de ELISA indirecta o de cloqueo. En la primera semana de edad el 100% de lechones de ambas granjas presentaron anticuerpos pasivos, persistiendo dichos anticuerpos en la mayoría de lechones por encima de séptima semana de edad. Se detectaron diferencias en los niveles de anticuerpos pasivos en los lechones durante la primera y tercera semana de edad de ambas granjas siendo estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Al comparar los coeficientes de variación de los resultados de los lechones de ambas granjas, se observó una mayor variabilidad en los niveles de anticuerpos en lechones de la granja A. Así mismo, hubo variación en los niveles de anticuerpos en las marranas de la granja A en comparación a los resultados de las marranas de la granja B pero, esta variación no tuvo significancia estadística ( $p > 0.05$ ). Estos resultados sugieren que los niveles y la persistencia de los anticuerpos pasivos dependen del sistema de manejo de cada granja.

**Palabras claves:** virus de la Peste Porcina Clásica (vPPC), anticuerpos maternos, lechones, marranas, vacunación, granjas porcinas.

## SUMMARY

The persistence of the levels of maternal antibodies against the of the Classical Swine Fever virus (CSFV) in piglets born of vaccinated sows from two farms (A and B) with different vaccination programs against CSFV located in Lima valley, Peru, was evaluated. In the farm A, the sows are vaccinated at 90 days of gestation and in farm B at 18 - 21 days post farrowed. Serum samples were taken from a total of 60 piglets by farm, at first (n=15), third (n=15), fifth (n=15) and seventh (n=15) weeks old and from sows from farm A (n = 15) and B (n =15) for antibodies detection against CSFV by indirect ELISA test. The 100% (30/30) of piglets of both farms had maternal antibodies against CSFV at first week old. In the majority of piglets the maternal antibodies persisted up to seventh week old. The levels of maternal antibodies in the piglets from both farms showed a statistically significant ( $p < 0,05$ ) differences at first and third week old. The comparison of the maternal antibodies titers indicated more variation in piglets from farm A, a high and uniform antibodies titers were observed in piglets from farm B during the study. The sows had high level of antibodies against CSFV indicating a good passage of these antibodies to their piglets. These results suggest that the level and persistence of the maternal antibodies in the piglets depend of the management system of each pig farms.

**Key words:** Classical Swine Fever Virus (CSFV), maternal antibodies, piglet, sows, vaccination, pig farms.

## I.- INTRODUCCIÓN

La Peste Porcina Clásica (PPC) es una enfermedad multisistémica altamente contagiosa y a menudo fatal que afecta a los cerdos domésticos y silvestres. La enfermedad se presenta en forma aguda, crónica y subclínica. Por ser muy contagiosa y debido a su impacto económico, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, 2004) la considera en la lista A. La enfermedad ha sido erradicada de muchos países como Estados Unidos, Inglaterra, Holanda, Australia, Chile entre otros, pero aun esta presente en América central, del sur y en muchos países en desarrollo (Van Oirschot, 2003).

La PPC es producida por el virus de la Peste Porcina Clásica (vPPC) que junto con el virus de la Diarrea Viral bovina y Enfermedad de la frontera, que afectan al bovino y ovino respectivamente, pertenecen al género Pestivirus, de la familia Flaviviridae (Fauquet *et al.*, 2005). El vPPC esta constituido por una molécula de ARN protegido por una cubierta proteica y una envoltura externa. El genoma codifica varias proteínas estructurales y no estructurales (Moennig, 1992), siendo la glicoproteína estructural E2/gp 55 que sobresale de la envoltura viral la de mayor importancia inmunitaria por inducir los anticuerpos neutralizantes (van Oirschot, 1999).

El virus posee un solo serotipo con cepas de baja, moderada y alta virulencia. Cuando una marrana gestante se infecta con cualquiera de las



cepas presenta un conjunto de fallas reproductivas, si la infección ocurre en el primer tercio de gestación con cepas de baja virulencia, los lechones pueden nacer inmunotolerantes y portadores del virus conocidos como animales persistentemente infectados (van Oirschot y Terpstra, 1977), los cuales pueden ser clínicamente normales después del nacimiento y sobrevivir varios meses (Moennig *et al.*, 2003). Además si el virus de baja y moderada virulencia infecta animales inmunosuprimidos de cualquier edad; pueden convertirse en animales subclínicamente infectados. Tanto los animales persistentemente infectados y los subclínicos son los diseminadores del virus dentro de los sistemas de producción porcina (Camacho, 2005). En el país la forma aguda de la enfermedad se observa mayormente en la crianzas no tecnificadas de los parques porcinos, en porcinos de la sierra y selva, mientras que la forma subclínica o atípica pueden presentarse en las crianza tecnificada (Rivera, 1994).

La prevención y control de la enfermedad está basada en la inmunización mediante el uso de vacunas a base a virus vivo modificado (van Oirschot, 2003), ya sea lapinizada o preparada en cultivo celular, ambos tipos de vacunas utilizan como virus semilla a la cepa China (van Oirschot, 2003). La vacuna contra la PPC es un buen inmunógeno ya que induce una buena respuesta inmunitaria celular y humoral (Moennig, 2000).

Si bien las vacunas disponibles en el país están basadas únicamente en la cepa china, actualmente las estrategias de vacunación que se utilizan en granjas tecnificadas se basan en la vacunación de las marranas antes o después del parto. En cualquier caso las marranas vacunadas deben transferir adecuados niveles de anticuerpos a los lechones enteramente a través del calostro (van Oirschot, 1986). Estos anticuerpos calostrales son catabolizados lentamente disminuyendo hasta niveles no detectables en 40 a 45 días dependiendo del nivel de inmunidad de las marranas (Terpstra y Tielen, 1976). Uno de los objetivos de la vacunación es romper la cadena de transmisión de la enfermedad, este objetivo al parecer no esta cumpliéndose en el país porque la PPC persiste ocasionando serios problemas para la industria porcina. La presencia de la enfermedad puede

deberse a muchos factores, uno de ellos podría ser el escaso conocimiento de la epidemiología de la PPC en el país como la respuesta inmunitaria del animal vacunado, tiempo de persistencia de los anticuerpos pasivos, prevalencia de animales portadores, etc.

Actualmente el SENASA (2005) está haciendo esfuerzos para el ingreso del Perú al Programa Continental de Erradicación de la PPC, dirigido por la FAO siendo la principal herramienta de control de la enfermedad la vacunación y eliminación de animales portadores. En este contexto el presente estudio tuvo como objetivo determinar la persistencia de los anticuerpos pasivos en lechones procedentes de dos granas con distintas estrategias de vacunación.

## II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1.- Antecedentes Históricos

La Peste Porcina Clásica (PPC) se originó en los Estados Unidos de América, pero en la actualidad su distribución es casi mundial (Radostis *et al.*, 2002). Aunque los primeros investigadores americanos fueron de la opinión que la enfermedad fue importada de Europa, las autoridades europeas aseguraron que tuvo su origen en los Estados Unidos de América. En una comunicación, el U.S.D.A. de Bureau of Animal Industry (1887- 1888) indicaba que la enfermedad se conoció por primera vez en Ohio en 1833, pero Hanson (1957) mencionó que la primera descripción de la enfermedad de Cólera se presentó en Tennessee, cerca de 1810. La enfermedad demostró ser una epizootia cíclica produciendo grandes brotes en Estados Unidos de América en 1887, 1896, 1913 y 1926 (Dunne, 1967).

Inicialmente se pensó que el agente causal era una bacteria Gram negativa. En investigaciones posteriores de Schweinitz y Dorset (1903), demostraron que era causada por un agente filtrable, reproduciendo la enfermedad en porcinos con fluidos de animales enfermos (Dunne, 1967).

Es muy posible que la PPC tuviera ocurrencia en Francia en 1822, donde era conocida con el nombre de Neumonía entérica infecciosa, y en Alemania en 1833 conocida como Schweineseuche, pero otros reportes sugieren que la enfermedad apareció por primera vez en 1867 en Inglaterra

conocida con el nombre de Fiebre Porcina y subsecuentemente se difundió por el continente europeo (Fuchs, 1968). Fue reportado en América del Sur en 1899 y en el Sur de África en 1900 (Moennig, 1992).

En 1971 se señala que en el Perú la enfermedad apareció en 1916 en Chancay y posteriormente en 1936 en Chiclayo. La enfermedad de la Peste Porcina Clásica fue clínica e histológicamente descrita durante un brote en Puno en 1948, en cercanías del Lago Titicaca y que fue debido a la introducción del virus desde Bolivia donde se había producido una epizootia (Rivera, 1994).

## **2.2.- Características del virus**

El virus de la Peste Porcina Clásica (vPPC), agente causal de la Peste Porcina Clásica (PPC), es miembro del género *Pestivirus*, perteneciente a la familia *Flaviviridae* (Fauquet *et al.*, 2005). El vPPC está relacionado antigénicamente con el virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) y el virus de la Enfermedad de la Frontera (vEF) que afecta al ganado bovino y ovino respectivamente. En la actualidad, el género *Pestivirus* se ha dividido en cuatro especies: Diarrea Viral Bovina virus-1 (vDVB-1), Diarrea Viral Bovina virus-2 (vDVB-2), virus de la Peste Porcina Clásica (vPPC) y Virus de la enfermedad de las Fronteras (vEF) (Van Regenmortel *et al.*, 2000).

### **2.2.1.- Morfología**

El Virus de la Peste Porcina Clásica es una partícula esférica pequeña de aproximadamente 40-60 nm de diámetro, con envoltura y de cadena simple, con un peso de 12.3 Kb (Moennig, 1992).

### **2.2.2.- Genoma**

El vPPC posee un genoma RNA de polaridad positiva con cerca de 12300 pares de bases (Moennig, 1992). El genoma del vPPC contiene un solo marco de lectura (ORF) para una poliproteína de

aproximadamente 3900 aminoácidos, la cual es cortada, co y post-traducida por proteasas de origen viral y celular para dar lugar a 12 proteínas del virion (Stark *et al.*, 1993; Rumenapf *et al.* 1991).

### 2.2.3.- Proteínas

Estas proteínas (Gráfico 1), se dividen en proteínas estructurales y no estructurales (Rumenapf *et al.*, 1991).

#### 2.2.3.1.- Proteínas Estructurales

**a) Proteína Npro/ p23-** Es el primer producto de la traducción del marco de lectura abierta. Posee una actividad autoproteasa que da como resultado una ruptura rápida en la poliproteína naciente (Rumenapf *et al.* 1998).

**b) Proteína C/p14.-** La función de esta proteína es empacar el genoma ARN y de proveer las interacciones necesarias para la formación de la envoltura del virion. Proteína de poca inmunogenicidad (Stark *et al.*, 1993).

**c) Glicoproteína E0/Erns/gp44/48.-** Es la región más conservada de los *Pestivirus*. Tiene actividad enzimática ARNasa, Esta proteína induce considerables niveles de anticuerpos pero tiene limitada acción neutralizante (Rumenapf *et al.*, 1991; Donis, 1995).

**d) Glicoproteína E1/ gp33.-** La función de esta proteína es servir de anclaje en la membrana celular y ayudar en la inidación transducción del polipéptido adyacente E2 (Thiel *et al.*, 1991; Donis, 1995).

**e) Glicoproteína E2/ gp 55.-** La glicoproteína estructural E2 se presenta en forma de homodímero (E2- E2) y heterodímero (E1-E2) (Thiel *et al.*, 1991). Es el mayor marcador para anticuerpos

neutralizantes (Van Oirschot, 1999). La naturaleza altamente variable de su región epítipo sugiere que la proteína E2 es una fuente importante de variabilidad antigénica (Brownlie *et al.*, 1997).

### **2.2.3.2.- Proteínas no estructurales**

**a) Proteína NS23/p125.-** La secuencia de esta proteína es homóloga para otros *Pestivirus*. Abarca la región, que en *Pestivirus* está dividida en dos polipéptidos separados, NS2 y NS3. Tiene función de proteasa y helicasa, jugando un rol importante en la replicación y patogénesis de la enfermedad. Cuatro dominios importantes son presentados por este polipéptido: una región hidrofóbica en el dominio N' terminal, seguido por una pequeña cantidad de zinc, una proteasa y una helicasa hacia el C' terminal (Donis, 1995; Meyers y Thiel, 1995).

**b) Proteína NS2/ p54.-** Es un producto de la proteólisis de la NS23/p125, colindante con el N Terminal. Es pobremente inmunogénica y no induce anticuerpos humorales (Donis, 1995).

**c) Proteína NS3/ p80.-** En el caso del vDVB es un marcador del efecto citopático. Es cercano al C Terminal y contiene las regiones proteasa y helicasa. Es la proteína más conservada en el género *Pestivirus*. Este polipéptido es muy estable en células infectadas y altamente inmunogénicas (Donis, 1995).

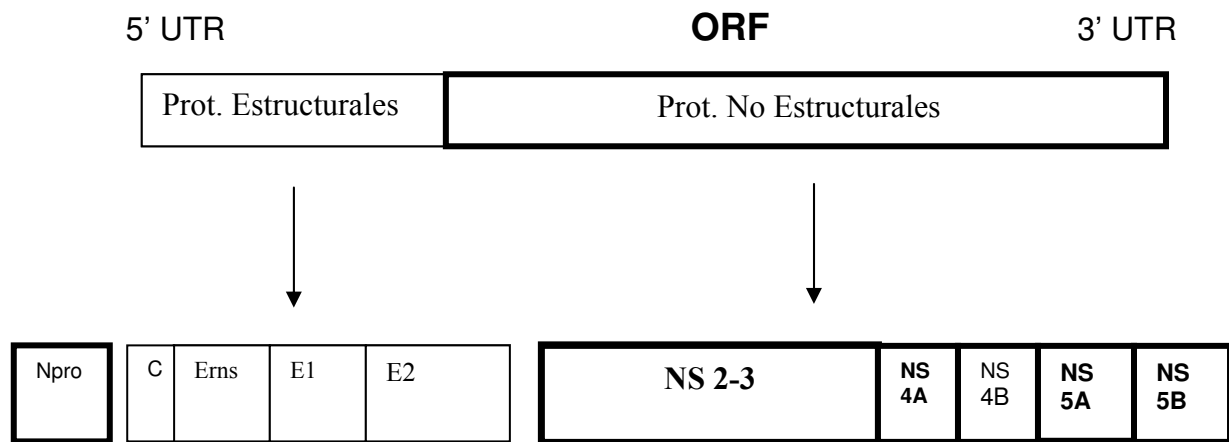
**d) Proteína NS4A/ p10.-** No hay información sobre este polipéptido pero se sugiere una posible funcionalidad restringida y un importante rol en la replicación (Donis, 1995).

**e) Proteína NS4B/ p32.-** Se sabe poco acerca de este polipéptido. Se ha reportado un posible rol en la modulación de la actividad de la proteasa de la p125/NS23 en la generación de p75/NS5B por clivaje (Donis, 1995).

f) **Proteína NS5A/p58.-** Se sugiere que cumple roles en la síntesis de RNA (Donis, 1995).

g) **Proteína NS5B/p75.-** Es el nombre para la ARN polimerasa dependiente de ARN. En el caso de vDVB en animales recuperados de la infección se encuentran anticuerpos no séricos (Donis, 1995).

**Gráfico 1. Proteínas estructurales y no estructurales del genoma viral**



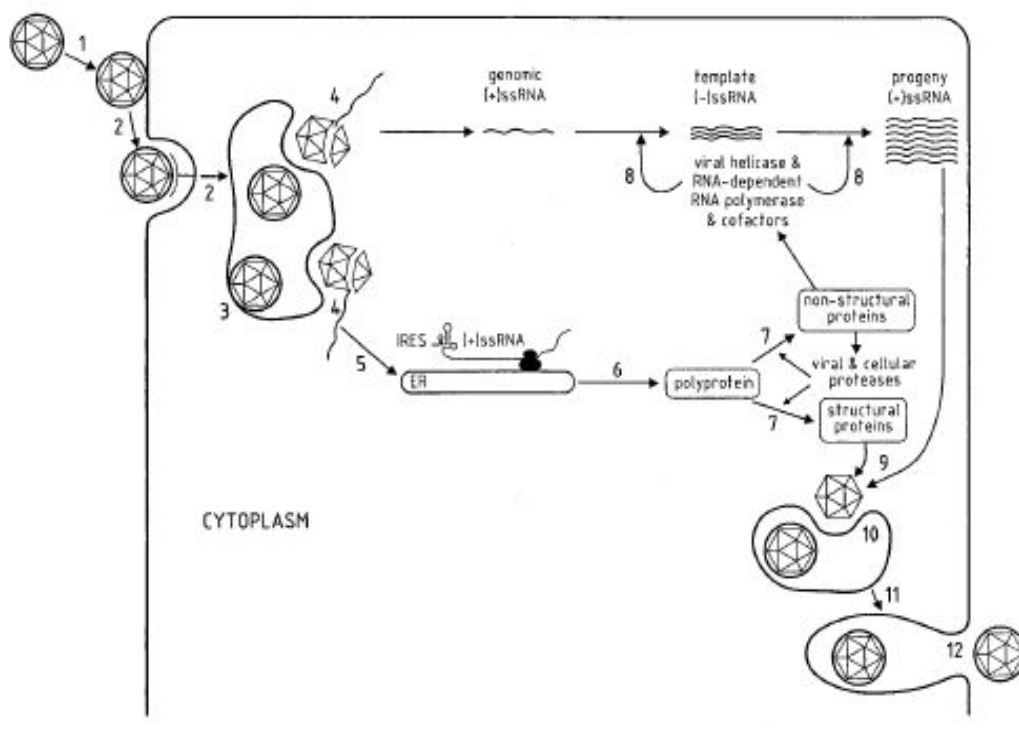
#### 2.2.4.- Replicación viral

El sitio inicial de interacción del virus con la célula hospedera es el heparin sulfato lo cual permite que el virus se concentre en la superficie de la célula (Hulst *et al.*, 2001). Después de esta interacción, se supone que el virus se une con alta afinidad y especificidad a los receptores y co-receptores comunes, desencadenando la endocitosis mediada por receptores. Recientemente, se ha demostrado que la glicoproteína E2 se une al receptor manosa-6-fosfato presente en la membrana celular de los mamíferos (Van Zijl *et al.*, 1991). Los cambios endosomáticos, hacen que baje el pH, desencadenando la fusión entre la envoltura viral y la membrana lisosomal. Expulsando la nucleocápside al citosol, tras lo cual la cadena positiva simple de ARN es descubierta. Después se libera el genoma lineal dentro del citoplasma, el 5' UTR se dirige del ARN ribosomal

donde se traduce por el ORF (marco de lectura abierta) en un precursor de poliproteínas (Leyssen *et al.*, 2000).

El 5' UTR contienen un sitio de entrada ribosomal interno que dirige al ribosoma al primer triplete para la codificación de la poliproteína. La proteína viral es procesada y posteriormente traducida en proteínas virales individuales y funcionales. Este procesamiento es transportado hacia fuera por proteasas celulares y virales. El ARN dependiente del ARN polimerasa, asociado con cofactores producen cadenas simples de ARN de polaridad negativa, lo que su vez sirve como una plantilla para la producción de nuevas y más cadenas simples y genomas de ARN. Después de la replicación el genoma viral es encapsulado por las proteínas de la nucleocápside y se dirige hacia el retículo endoplasmático o en la membrana del cuerpo de Golgi; donde el virus inmaduro es rodeado por la envoltura lipídica conteniendo las proteínas virales. Finalmente, los virus maduros son liberados en el espacio extracelular por exocitosis (Brownlie *et al.*, 1997).

**Gráfico 2. Replicación del virus de la Peste Porcina Clásica**



Levseen P., 2000



### 2.2.5.- Biotipos

En todos los miembros de los *Pestivirus* existen dos biotipos: citolítico y no citolítico. El biotipo citolítico tiene la capacidad de producir cambios en la morfología celular como efecto citopático. Ambos biotipos difieren en la presentación de la proteína p80, presente sólo en el biotipo citopático. Esta proteína está directa o indirectamente involucrada en el daño celular.

Aunque vPPC es generalmente no citopatogénico (ncp) en cultivo celular y en células dendríticas; los biotipos citopatogénicos (cp) se han aislado de animales infectados (Aoki *et al.*, 2001) o se presenta espontáneamente después de pasajes múltiples en cultivo celular (Meyers y Thiel, 1995). Con pocas excepciones, el efecto citopático (ecp) observado hasta ahora con vPPC cp se correlaciona con la presencia de las partículas defectivas interferentes (PDI) asociadas al virus colaborador de campo, que han sido también asociadas como generadoras de citotoxicidad (Aoki *et al.*, 2004). Estas PDI son constituidas en el 5' UTR, en el codon para la metionina, en los genes NS3 a NS5B y el 3' UTR. El genoma de las PDI no poseen región que codifique proteínas estructurales y es por eso que para la replicación se necesite de un virus coinfectante no citolítico, para que la progenie resultante exhiba el fenotipo. Las PDI presentan una eliminación interna de 4764 nucleótidos que pertenecen a la región que codifica a las proteínas no estructurales. Para el vPPC, la significancia del biotipo cp en la patogénesis es probablemente menor (Aoki *et al.*, 2004), en contraste con el vDVB para el cual los biotipos cp se asocian a la enfermedad de las mucosas (Kummerer y Meyers, 2000). Una observación interesante es que los *Pestivirus* cp producen una cantidad perceptiblemente más alta de RNA viral total comparado con su correspondiente biotipo ncp (Kupfermann *et al.*, 1996).

### 2.2.6.- Genotipos

La clasificación taxonómica del vPPC se basa en la comparación de las regiones genómicas del 5' UTR, E2 y NS5B (Lowings *et al.*, 1996; Paton *et*

*al.*, 2000), se clasifican en tres genotipos principales y un número de subgrupos (Paton *et al.*, 2000). Técnicas de epidemiología molecular se han utilizado para caracterizar virus de la PPC de diversos países y para determinar la fuente de los virus que causaron brotes de la PPC. La nomenclatura de Lowings *et al.* (1996), divide virus de la PPC en tres grupos con tres o cuatro subgrupos: 1.1, 1.2, 1.3; 2.1, 2.2, 2.3; 3.1, 3.2, 3.3 y 3.4. La mayoría de las vacunas provienen del genotipo 1, se cree que inducen inmunidad protectora contra todos los grupos de vPPC, es decir protección heterotípica (Moennig, 2000).

### **2.3.- Propiedades físico-químicas del virus**

El vPPC es inactivado por un pH menor a 3 y un pH mayor de 11. Es parcialmente resistente a temperatura moderada (56 °C). El vPPC es inactivado por los solventes lipídicos como el éter, cloroformo dioxicolato y  $\beta$  propiolactano al 0.4%. Los agentes desinfectantes usados son cresol, hidróxido de sodio al 2% (el más recomendable), formalina al 1%, carbonato de sodio, detergentes iónicos y no iónicos e ionóforos fuertes en ácido fosfórico (OIE, 2004). La putrefacción lo destruye de 1 a 3 días, se inactiva fácilmente en estiércol y corrales. Sobrevive bien en condiciones frías y puede sobrevivir a algunas formas de procesamiento de carne como el curado y ahumado (OIE, 2004). El virus persiste en órganos en descomposición durante 3 a 4 días, y en la sangre y médula ósea en descomposición durante 15 días (Radostis *et al.*, 2002).

### **2.4.- Aspectos inmunológicos del virus de la Peste Porcina Clásica**

En el caso de animales infectados en el primer tercio de gestación, los lechones nacen con tolerancia inmunológica al vPPC; generando ausencia de respuesta inmunitaria específica. Estos animales parecen ser sensibilizados al ser desafiados con el virus virulento de PPC u otros antígenos (Van Oirschot, 1979b).

Para animales inmunocompetentes; después de una infección primaria los anticuerpos neutralizantes aparecen después de dos semanas, en el caso de cepas de moderada y alta virulencia, ya que el virus es un buen inmunógeno, pero las cepas de baja virulencia son malos inmunógenos (Van Oirschot, 1986).

Al noveno día post infección, pueden encontrarse anticuerpos neutralizantes en los cerdos en la fase de convalecencia y después de 15 días en los cerdos con infecciones agudas. La respuesta máxima de los anticuerpos se da entre 3 y 4 semanas después del contagio, que pueden permanecer elevados de manera indefinida (Radostis *et al.*, 2002).

El virus induce respuesta tanto de células B y T. Al parecer hay una respuesta al vPPC específica para el epítipo de la célula T CD4+ y célula T CD8+ en animales seropositivos (Armengol *et al.*, 2002). La respuesta antiviral de células T CD8+ actúan como efectoras contra células infectadas, y las CD4+ proporcionan ayuda para la producción de anticuerpos neutralizantes (Rhodes *et al.*, 1999).

Los *Pestivirus* generan anticuerpos contra la Erns, E2, la proteína no estructural NS23 y posiblemente contra la proteína de envoltura E1 (Muyldermans *et al.*, 1993). La proteína de mayor importancia inmunológica es la glicoproteína E2 (gp/55), ya que es el que induce anticuerpos neutralizantes (Van Oirschot, 1999).

Durante la enfermedad aguda, la reactivación inmune de los cerdos cambia. Una depresión secundaria en la respuesta de anticuerpos a lisosomas y un aumento anormal de la respuesta en sangre periférica y órganos linfoides de células mitógenas de linfocitos T y B han sido reportadas. La consecuencia inmunopatológica más importante de la infección aguda es una deficiencia en linfocitos B debida a la destrucción por el virus de los centros germinales (Susa *et al.*, 1992)

## **2.5.- Epidemiología**

### **2.5.1.- Distribución Geográfica**

La PPC, se encuentra en la parte este y suroeste de Asia, en la India, China, en el este y centro de África, en la mayor parte de Centro América y Sudamérica. Esta enfermedad ha sido erradicada de Estados Unidos de América, Canadá, Nueva Zelanda y Australia. La mayoría de Europa occidental está libre de PPC; sin embargo, sigue habiendo focos de infección en Alemania y algunos países de Europa del este (OIE, 2004). En el Perú la enfermedad es enzoótica, prevaleciendo la enfermedad aguda en la sierra y selva, y la enfermedad subclínica en la costa (Rivera, 1994). Presentándose casos de la enfermedad en Lima, Ica, Arequipa, Puno, Cajamarca, Madre de Dios y Ucayali (SENASA, 2005).

### **2.5.2.- Fuentes de infección**

El cerdo salvaje y doméstico es el único hospedero natural, aunque es capaz de replicarse en otras especies animales como rumiantes domésticos, venados y animales de experimentación, entre ellos el conejo es el más importante, ya que dieron lugar a la obtención de clones de cepas atenuadas (Van Oirschot, 1986).

La infección natural se lleva a cabo por contacto directo entre animales infectados y susceptibles por vía oronasal, siendo el medio principal de transmisión viral, cuando esto no ocurre el virus penetra por vía digestiva, mucosa nasal y conjuntiva. La orina es el material más infectante, le siguen las secreciones oculares, bronquiales y sangre (Flores y Agraz, 1981).

### **2.5.3.- Métodos de transmisión**

### **2.5.3.1.- Transmisión vertical**

Se da como resultado de la infección transplacentaria; es propio de las infecciones por cepas de moderada o baja virulencia, y están condicionadas por el momento de la infección en el tiempo de gestación y por la virulencia de la cepa (Moennig, 2000).

La infección en estadios tempranos de gestación puede resultar en abortos, momificaciones o malformaciones. La infección cerca de los 50-70 días de gestación puede dar el nacimiento de PI, los cuales pueden ser clínicamente normales después del nacimiento y sobrevivir por varios meses (Moennig *et al.*, 2003).

En cualquier etapa de la gestación con cepas de baja virulencia o vacunales se pueden producir malformaciones congénitas como hipoplasia pulmonar, micrognatia, artrogriposis, fisuras de la corteza renal, septos múltiples de la vesícula biliar y malformaciones encefálicas (Giles, 1998).

### **2.5.3.2.- Transmisión horizontal**

Es la principal forma de transmisión de la enfermedad y la principal ruta es el contacto oro-nasal entre animales susceptibles e infectados. También hay otras rutas de transmisión como es el contagio por vectores, roedores, vestimenta, alimento contaminado, inseminación artificial (Moennig, 1992). También se puede difundir por cualquier procedimiento en el que se pase sangre de un animal a otro (inyecciones, castración, vacunación, descole, etc.) sin haberse desinfectado adecuadamente el instrumental usado (Camacho, 2005).

### **2.5.4.- Epidemiología de los animales persistentemente infectados (PI)**

En estudios realizados sobre la infección transplacentaria en marranas en distintos días de gestación, se concluyó que mientras más avanzada eran

los días de gestación, más poco probable era que los lechones nacieran persistentemente infectados (Van Oirschot, 1979a). Ha sido demostrado que el principal mecanismo de persistencia de los *Pestivirus* es su capacidad de atravesar la placenta y establecer la infección persistente e inmunotolerancia en la cría, siendo esenciales para la sobrevivencia y mantenimiento del virus en la granja o en el hato (Nettleton y Entrican, 1995).

## **2.6.- Patogenia y cuadro clínico**

En condiciones normales el virus ingresa vía oronasal. Ocasionalmente el virus logra acceder al hospedero a través de la mucosa conjuntival y genital o por abrasiones en la piel. La tonsila es el sitio primario de replicación; inicialmente el virus infecta a las células epiteliales de las criptas tonsilares y subsecuentemente se difunde hacia el tejido linforeticular circundante (Radostis, 2002). De las tonsilas el virus es difundido por los vasos linfáticos. El virus se replica en los nódulos linfáticos regionales, entonces alcanza la sangre periférica, se difunde en bazo, médula ósea, nódulos linfáticos viscerales y placas de Peyer (Trautwein, 1988). Las células blanco más importantes para el virus son células endoteliales, células linforeticulares, macrófagos y algunas clases de células epiteliales. (Van Oirschot, 1986).

El virus probablemente no realiza invasión a órganos parenquimatosos, hasta después de la fase virémica. La propagación del virus virulento por todo el animal se completa en 5 a 6 días (Ressang, 1973).

Las múltiples hemorragias vistas en casos de PPC aguda son causadas por degeneración hidropica con proliferación del endotelio vascular que se traduce en la oclusión de los vasos sanguíneos, junto con una severa trombocitopenia y disturbios en la síntesis del fibrinógeno. Los trastornos en el sistema vascular producen las características lesiones de congestión, hemorragia e infarto debido a las alteraciones en arteriolas, venulas y capilares. Estas lesiones son marcadas en ganglios linfáticos, bazo,

riñones y aparato digestivo (Radostis, 2002). La circulación simultanea de antígenos virales y anticuerpos podría resultar en la descomposición del complejo inmune en los riñones lo que eventualmente podría conducir a una glomerulonefritis (Van Oirschot, 1986).

Durante la exacerbación de la enfermedad, el virus es otra vez distribuido en todo el cuerpo. Esta propagación podría ser promovida por el agotamiento de la respuesta inmune que parece desarrollarse en cerdos con PPC crónica. La fase de latencia del vPPC inicialmente es de curso inaparente; esto se podría ver varios meses después de haber tenido contacto con el virus hasta que los cerdos desarrollan signos de la enfermedad (Van Oirschot, 1986).

#### **2.6.1.- Infección subclínica**

La infección subclínica se da por cepas de baja virulencia del vPPC e inducen persistencia en los tejidos linfoides y en el sistema nervioso central. Esta infección se da en animales adultos, lechones o animales de engorde. Estos animales presentan inmunodepresión (Potgieter, 1995) predisponiéndolos a infecciones secundarias.

#### **2.6.2.- Infección aguda**

Porcinos de más de 12 semanas de edad frecuentemente desarrollan la forma aguda. En la PPC aguda, los cerdos parecen y actúan enfermos. La enfermedad progresa a la muerte en el plazo de 10 a 15 días, pero a menudo hay una muerte repentina. La mortalidad de los cerdos jóvenes puede alcanzar el 90%. Los cerdos enfermos, se amontonarán en la esquina más caliente del recinto. Los hallazgos constantes son pirexia, usualmente mas alta que 40 °C, pero en animales adultos la temperatura no excede los 39.5°C (Dunne, 1967). Los signos iniciales son anorexia, letargia, conjuntivitis, agrandamiento de nódulos linfáticos, signos respiratorios y constipación seguida de diarrea. Signos neurológicos son frecuentemente observados con paso tambaleante con debilidad en el

tren posterior, incoordinación de movimientos y convulsiones. Las hemorragias típicas en la piel son observadas en las orejas, cola, abdomen e interior de los miembros (Giles, 1998).

Los cambios patológicos visibles en el examen *post mortem* son observados frecuentemente en nódulos linfáticos, bazo y riñones. Los nódulos linfáticos están edematosos y hemorrágicos. Se observan hemorragias en riñón de diferente tamaño desde petequiales a equimóticas. Hemorragias petequiales pueden ser observadas en diferentes órganos. Una encefalitis no supurativa es frecuentemente observada (Moennig *et al.*, 2003).

### **2.6.3.- Infección persistente**

Es el resultado de la infección transplacentaria en fetos con cepas de vPPC de baja virulencia, si la exposición se da en el primer trimestre de la vida fetal (Van Oirschot y Terpstra, 1977). Los cerdos infectados así no producen anticuerpos que neutralizan al vPPC y tienen un viremia de por vida (Van Oirschot, 1979b). Las lesiones a la necropsia que se observan en los animales persistentemente infectados son ganglios linfáticos hinchados y blanquecinos y atrofia de timo (Van Oirschot, 1979a). Los cerdos pueden estar virtualmente libres de la enfermedad por varios meses antes de desarrollar anorexia suave, depresión, conjuntivitis, dermatitis, diarrea y disturbio locomotor que conduce a paresia y muerte (Giles, 1998). Algunos cerdos pueden ser virtualmente sanos pero siendo persistentemente infectados mueren al ser infectados por infecciones secundarias. Se ha observado que algunos han sobrevivido hasta 11 meses después del nacimiento (Moennig, 2000).

### **2.6.4.- Infección crónica**

La infección crónica es siempre fatal. Se desarrolla cuando los cerdos no son capaces de montar una efectiva respuesta inmune contra la infección. Los signos iniciales son similares a los de la enfermedad



aguda. Posteriormente predominan signos no específicos como fiebre intermitente, enteritis crónica con periodos de diarrea y estreñimiento que se alternan (Dunne, 1967). Pueden sobrevivir por 2 ó 3 meses antes de morir (Moennig *et al.*, 2003).

Hay una pérdida en los cambios patológicos característicos, especialmente en la falta de hemorragias en órganos. En animales que desarrollan diarrea crónica se observan lesiones necróticas y ulcerativas en ileon, válvula ileocecal y recto (Moennig *et al.*, 2003).

#### **2.6.5.- Infección en hembras gestantes**

La infección en las marranas con el vPPC por cepas virulentas ocasionará abortos y al nacimiento de cerdos enfermos que morirán poco después del nacimiento. La transmisión transplacentaria con cepas de baja virulencia, puede dar lugar a la momificación, nacidos muertos o al nacimiento de cerdos débiles. Las lesiones más comúnmente vistas son hipoplasia del cerebelo, atrofia del timo, ascitis, y deformidades de la cabeza y los miembros. El edema y las hemorragias petequiales de la piel y de los órganos internos se observan en la etapa terminal de la enfermedad (Giles, 1998). En las granjas afectadas con cepas de baja virulencia del vPPC, el pobre funcionamiento reproductivo de las marranas puede ser la única muestra de la enfermedad (Moennig, 2000).

### **2.7.- Diagnóstico**

#### **2.7.1.- Virus o antígenos virales**

##### **2.7.1.1.- Aislamiento Viral**

El aislamiento del vPPC en cultivos celulares es considerado en la actualidad como la técnica de referencia obligada en zonas exentas de la enfermedad o como técnica confirmatoria en caso de dudas (Moennig, 2000). El aislamiento de virus en cultivo celular es un

método más sensible pero más lento para el diagnóstico de PPC que la inmunofluorescencia. La sensibilidad del aislamiento es sólo comparable a la del PCR. Está basado en la capacidad del vPPC en multiplicarse en la línea celular de riñón de cerdo (PK-15) sembradas simultáneamente en placas con un 2% suspensión de tonsila en el medio de crecimiento rápido de animales sospechosos (Sánchez – Vizcaíno, 2003). Después de 24- 72 horas se realiza una tinción (fluorescencia directa o inmunoperoxidasa) con anticuerpo monoclonal para observar la presencia o no del vPPC. Una muestra se considera negativa luego de tres subpasajes negativos.

#### **2.7.1.2.- Inmunofluorescencia**

Esta prueba no diferencia si es virus vacunal o de campo, ya que durante los primeros 15 días posvacunación se detecta virus vacunal en órganos. Es una prueba rápida que puede usarse para descubrir el antígeno del vPPC en las secciones de tejido: tonsilas, bazo, el riñón, nódulos linfáticos. Se marcan las secciones de tejido cortadas con inmunoglobulina anti-PPC conjugado al isotiocianato de fluoresceína (FITC) o usando un FITC secundario indirectamente conjugado; examina por la microscopía de fluorescencia (Romero *et al.*, 1998).

#### **2.7.1.3.- ELISA de captura**

Se ha desarrollado recientemente; este Kit detecta antígeno de PPC a partir de distintas muestras, que varían dependiendo de la marca de Kit. Se usa leucocitos, suero y macerados de órganos. Suele detectar el vPPC en sangre a los 6-7 días post-inoculación. Tiene un aceptable nivel de correlación con el aislamiento viral. Se basa en un ELISA sándwich en el que se utilizan anticuerpos monoclonales para capturar y revelar la captación de antígenos virales. El tiempo total de este método es de 36 horas. Está recomendada en zonas ya infectadas o con alta probabilidad de ser infectada; así como cuando el número de muestras sea muy elevado (Romero *et al.*, 1998).

#### **2.7.1.4.- Inmunoperoxidasa**

Es casi igual a la técnica de Inmunofluorescencia directa, lo único que cambia es el conjugado empleado, que varía en que anticuerpos policlonales o monoclonales estén conjugados con peroxidasa de rábano. La sensibilidad y la especificidad de la inmunoperoxidasa es igual que para la de inmunofluorescencia (Romero *et al.*, 1998).

#### **2.7.2.- Ácido nucleico viral**

##### **2.7.2.1.- Reacción en Cadena de la Polimerasa**

La técnica de PCR (Reacción de Cadena de la Polimerasa) es una técnica muy práctica, rápida y eficaz en el diagnóstico. Descrita por primera vez por Mullis y Faloona en 1987. Esta técnica consiste en la amplificación del ácido nucleico del virus millones de veces. Se ha seleccionado un fragmento de RNA común a todos los *Pestivirus* y otro fragmento específico de cada uno de los componentes de este grupo viral, de manera que se puede hacer un diagnóstico diferencial de gran sensibilidad y especificidad. En años recientes, la ampliación específica y el análisis de secuencias virales por RT-PCR han permitido la tipificación de *Pestivirus* en varios grupos genómicos (Díaz de Arce; 2002).

#### **2.7.3.- Anticuerpos específicos**

##### **2.7.3.1.- Seroneutralización**

Se inoculan cultivos celulares con mezclas de suero diluido y una cantidad constante de virus tras un periodo determinado de incubación a 37 °C. La existencia de anticuerpos neutralizantes específicos en el suero provoca la neutralización del virus, al añadir a continuación una suspensión de células PK-15, estas no se infectan. Si el suero problema carece de anticuerpos específicos de PPC el virus

permanecerá libre y podrá infectar a las células. Debido a que el virus no produce efecto citopático en los cultivos celulares, la posible replicación del virus deberá ser detectado por un sistema indicador de marcado inmunológico, donde se puede emplear un conjugado de fluorescencia anti-virus, realizándose la lectura en un microscopio de inmunofluorescencia, o bien por un conjugado de peroxidasa, pudiéndose leer la reacción con un microscopio óptico, observándose una reacción rojo intenso en el citoplasma de las células (Romero *et al.*, 1998).

#### **2.7.3.2.- ELISA Convencional**

Debido a su rapidez y facilidad de ejecución, así como su elevada sensibilidad y especificidad es la técnica utilizada habitualmente en los rastreos epidemiológicos. Suelen tratarse de técnicas de ELISAs de bloqueo, competición e indirecto, debiendo detectar anticuerpos contra cepas de vPPC pero a su vez evitar reacciones cruzadas con cepas de *Pestivirus*. El antígeno que emplean son proteínas virales recombinantes o bien cepas del vPPC recomendadas por el laboratorio de referencia. En el caso del ELISA de competición o de bloqueo el antisuero puede tratarse de un anticuerpo policlonal o bien por anticuerpos monoclonales específicos de un determinante antigénico exclusivo del vPPC. En el caso del ELISA indirecto se tratará de una anti-inmunoglobulina de cerdo que detecte tanto inmunoglobulina G como Ig M (Romero *et al.*, 1998).

#### **2.7.3.3.- ELISA Diferencial**

Se basa en un ELISA de competición que utiliza un anticuerpo monoclonal frente a la gp 55 (glicoproteína E2). Permite la realización de un gran número de muestras en un corto período de tiempo, gracias a que las fases del sistema ELISA se pueden automatizar. La desventaja de este ELISA es que no es suficientemente sensible y específico (Van Oirschot, 2003). Además, las pruebas discriminatorias

actualmente disponibles no proporcionan una especificidad y sensibilidad alta (Greiser y Moennig, 2004).

## **2.8.- Prevención y control**

La política de control para la PPC depende de la incidencia y de la prevalencia de la infección en las poblaciones domésticas y salvajes del porcino. En países donde la enfermedad es endémica, en cerdos domésticos es práctica común vacunar contra la enfermedad (Moennig, 2000), y en algunos países se da una política de erradicación (Van Oirschot, 1986). Actualmente está en trámite el ingreso del Perú al Programa Continental de Erradicación de la Peste Porcina Clásica, dirigido por la FAO (SENASA, 2005)

Para un control efectivo deben aplicarse una serie de medidas de orden sanitario, en zonas de alta densidad porcina y con prevalencia del virus se hace imprescindible aplicar programas inmunoprolácticos combinados con medidas higiénico-sanitarias que puedan reducir los efectos negativos de la enfermedad o bien lograr la erradicación. Las medidas más recomendadas son vacunación y erradicación (Camacho, 2005).

Es muy importante la educación de los productores y toda persona comprometida con el proceso productivo haciéndoles comprender el carácter altamente contagioso y la facilidad con la que se propaga la enfermedad (SENASA, 2005).

## **2.9.- Vacunas**

Existen diferentes tipos de vacunas; las vacunas a virus vivo modificado que son las más ampliamente usadas en los diferentes países, al igual que en nuestro país. También existen vacunas a base de subunidad que recién ha sido introducida en el mercado.

Técnicamente hay el potencial de mejorar las vacunas; desarrollando, por ejemplo, vacunas virales marcadas, vacunas de ADN y ADN complementario molecularmente alterado de clones del vPPC (Moennig, 2000).

El virus vacunal (virus vivo modificado) puede ser transmitido por contacto entre cerdos vacunados y no vacunados, pero no se ha reportado que cause infección persistente (Van Bekkum, 1977).

### **2.9.1.- Vacuna a Virus Vivo Modificado**

Al principio del siglo, se dieron las primeras tentativas para desarrollar vacunas, estas fueron vacunas inactivas y vacunas de la Diarrea Viral Bovina, demostrando que la seguridad y la eficacia de estas vacunas eran pobres. Actualmente, sólo vacunas vivas atenuadas son usadas rutinariamente; basadas sobre cepa China, cepa GPE- o cepa Thiverval (Vlasova *et al.* 2002). Las vacunas, son derivadas sobre todo del genogrupo 1 de vPPC, se cree que inducen inmunidad protectora contra todos los grupos de vPPC (Moennig, 2000).

El origen de la cepa China no se conoce exactamente. La mayoría de cepas Chinas han sido pasadas cientos de veces en conejos. Las cepas Chinas han sido subsecuentemente adaptadas para el crecimiento en cultivos celulares (Terpstra *et al.*, 1990). Genéticamente se caracteriza por tener una inserción de 13 nucleótidos continuos de Uracilo en la región 3' UTR, ausente en otras cepas de PPC (Moormann *et al.*, 1996).

La vacuna de cepa GPE-, de procedencia japonesa, ha sido desarrollada por el pasaje seriado de la cepa virulenta ALD (Van Oirschot, 2003).

La cepa francesa Thiverval ha sido derivada de la cepa virulenta Alfort a través de más de 170 pasajes seriados a 29 a 30 °C y pueden ser identificada por varios marcadores *in vitro* (Van Oirschot, 2003).

La mayoría de las vacunas atenuadas se basan en la cepa China lapinizada del vPPC. Las vacunas de la cepa China fueron y están todavía siendo utilizadas por todo el mundo para el control de la PPC en cerdos domésticos. También se utiliza sobre una base experimental para la inmunización oral para controlar la PPC en cerdos salvajes (Kaden *et al.*, 2000).

Las vacunas de la cepa China inducen altos títulos de anticuerpos neutralizantes. Su eficacia es demostrada por la observación de cerdos vacunados que están protegidos contra infecciones contra el virus virulento de PPC desde los 5 días después de la vacunación (Moennig, 2000).

La cepa China puede atravesar la barrera placentaria de marranas preñadas, pero parece no producir ninguna anormalidad en los fetos. Se puede transmitir de cerdos vacunados a no vacunados por contacto (Van Oirschot, 1986).

La desventaja de las vacunas vivas es que los animales vacunados y los infectados por virus de campo no pueden ser distinguidos porque el patrón del anticuerpo inducido por el virus vacunal se asemeja a la de los animales postinfección (Moennig, 2000).

### **2.9.2.- Vacuna marcada**

Hasta la fecha, existen dos vacunas subunitarias basadas en la glicoproteína E2 del vPPC en un sistema recombinante de baculovirus. La región transmembrana del gen ha sido borrada, la proteína es secretada en altos niveles dentro del sobrenadante del cultivo celular de insectos. El baculovirus está inactivado y la proteína E2 está adjuntada con la emulsión agua-aceite-agua (Moormann *et al.*, 2000). Otro grupo de investigadores, dirigidos por Luticken (1998), desarrollaron una vacuna subunitaria E2 a lo largo de la misma línea. Las pruebas discriminatorias de acompañamiento se basan en un ELISA que detecta

otra glicoproteína viral, el Erns. Las vacunas de subunidad probaron ser menos eficaces que vacunas atenuadas vivas (Greiser y Moennig, 2004).

## **2.10.- Vacunación e inmunidad pasiva**

La ingestión de anticuerpos calostrales protege a los lechones contra la mortalidad por vPPC, esta protección declina al crecer los lechones y los títulos de anticuerpos maternos disminuyen (Terpstra y Tielen, 1976). Los altos títulos de anticuerpos derivados de la madre suprimen considerablemente la respuesta inmune protectora inducida por la vacunación (Vandeputte *et al.*, 2001).

Debido a que el intestino de los lechones recién nacidos es permeable a las inmunoglobulinas durante las primeras 36-48 horas de vida (Tizard, 1999). Estos anticuerpos maternos tienen una vida media aproximada de 14 días. Lechones nacidos de marranas vacunadas son protegidos por 5-8 semanas contra la mortalidad por PPC pero no contra la replicación; en el caso de lechones nacidos de marranas no vacunadas la protección es de 7 días (Van Oirschot, 1986).

Estudios realizados no encontraron diferencias significativas entre las secciones (frente, centro y traseras) de las ubres de marranas en el nivel de anticuerpos que es secretado por el calostro (Soos *et al.*, 2001). Dependiendo de la cantidad de calostro consumido por el lechón para tener protección contra la infección.



### **III.- MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- Lugar de muestreo**

El estudio fue realizado en dos granjas porcinas tecnificadas del Valle de Lima, con una población promedio de 1200 marranas y 6000 animales de engorde en la granja A; y de 550 marranas y 2500 animales de engorde en la granja B. El monitoreo fue realizado entre los meses de agosto y septiembre del año 2005.

#### **3.2.- Sistema de manejo en la granja**

Los lechones son híbridos comerciales, permanecen con sus madres por un período de 18-21 días, en los que se los desteta, luego los lechones son transportados a jaulas de recría, donde permanecen hasta los 70 días. Posteriormente son llevados a corrales de engorde hasta que alcancen el peso de mercado (90 Kg) que es alrededor de los 150 días.

En ambas granjas, se práctica el sistema todo dentro todo fuera; con un sistema de bioseguridad estricto. La granja A tiene dos áreas, en la primera se realiza: reproducción, maternidad y recría y la otra área se realiza engorde; mientras la granja B tiene tres áreas separadas: la primera es de maternidad y reproducción, la segunda de recría y la tercera de engorde.

Los programas de vacunación aplicados contra los diferentes agentes infecciosos en las granjas en estudio se observan en el Cuadro 1. Las vacunas contra el vPPC, aplicadas a chanchillas y marranas se observan en el Cuadro 2.

**Cuadro 1. Programa de vacunación contra diferentes agentes infecciosos aplicadas a chanchillas y marranas en las granjas en estudio**

Vacunas	Clase			
	Chanchillas (días de edad)	Marranas gestantes (días de gestación)		Lactantes (días post-parto)
		Primerizas	Múltiparas	
<i>Parvovirus</i>	160			10
<i>Erisipela</i>	y	-----	-----	
<i>Leptospira sp.</i>	181			
<i>Mycoplasma</i>	-----	72 y 90	90	-----
<i>Bordetella</i> y <i>P. multocide</i>	-----	72 y 100	100	-----
<i>E.coli</i> y toxoide de <i>Clostridium</i>	-----	79 y 100	100	-----

**Cuadro 2. Vacunas contra Peste Porcina Clásica en chanchillas y marranas en las granjas en estudio**

Clase	Granja A	Granja B
Chanchilla reproductora	-----	140 días de edad
Marranas gestantes (primerizas y múltiparas)	90 días de gestación	-----
Marranas lactantes (primerizas y múltiparas)	-----	18-21 días post parto

En el caso de los lechones; en la granja A, se vacunan contra *Erisipela* (34 días de edad), Peste Porcina Clásica y *Erisipela* (50 días de edad). En la granja B contra *Mycoplasma* y *Erisipela* (36 días

de edad), Peste Porcina Clásica, *Mycoplasma* y *Erysipela* (50 días de edad).

### **3.3.- Materiales**

#### **3.3.1.- Muestras**

Se obtuvieron 75 sueros porcinos de cada granja. Se rotuló cada muestra con la edad del animal, identificación de la granja y fecha de extracción.

#### **3.3.2.- Materiales de laboratorio**

- Tubos al vacío sistema vacutainers sin EDTA (KIT)
- Agujas vacutainer de 20 x 1 ½ pulgadas (Precision glide).
- Caja de ternopor.
- Refrigerantes.
- Gradillas y viales.
- Micropipetas unicanal de 50, 100 y 1000 *ul*.
- Micropipetas multicanal de 50, 100 y 300 *ul*.
- Pipetas pasteur de plástico.
- Tips de plástico.
- Probetas de 5, 50 y 500 ml.
- Cámara húmeda.
- Canaletas de plástico.
- Papel parafina.
- Papel toalla.

#### **3.3.3.- Reactivos**

- Kit de ELISA de bloqueo CSF-SERO distribuido por el laboratorio Bommeli Diagnostics – Intervet, conteniendo:
- Placas cubiertas con la proteína gp 55 (E2) del vPPC.
- Solución diluyente de muestras, listo para usar.

- Sueros controles positivo y negativo de referencia.
- Anti-PPC (gp 55) monoclonal conjugado con la enzima peroxidasa (peróxido de rábano silvestre - HRP), listo para usar.
- Substrato cromógeno (TMB), listo para usar.
- Solución de bloqueo de la reacción (TMB), listo para usar.
- Solución de lavado a una concentración de 10X .

### **3.3.4.- Equipos**

- Centrífuga.
- Refrigeradora.
- Lector de ELISA.
- Filtro de 450 nm.
- Timer.

## **3.4.- Métodos**

### **3.4.1.- Tamaño muestral**

Según Stevenson (1999), trabajando con un 95% de confianza y con una población de más de 300 animales, el número mínimo de animales a muestrear es 5, debido a que en la población más del 50% de los animales presentarán anticuerpos, por ser animales vacunados. En el estudio se muestreó a 15 animales tanto marranas como lechones.

### **3.4.2.- Diseño Experimental**

En cada granja, se muestrearon al azar, 15 lechones aparentemente sanos, a la primera, tercera, quinta y séptima semana de edad, igualmente se muestrearon 15 marranas preñadas por granja, con diferente número de partos y aparentemente sanas; dos días antes de la fecha probable de parto (cuadro 2 y 3).

**Cuadro 3. Fecha de toma de muestra en lechones y marranas**

Procedencia	Tiempo de toma de muestra	
	Marranas	Lechones (semanas de edad)
Granja A	2 días antes de la FPP	1°, 3°, 5° y 7°
Granja B	2 días antes de la FPP	1°, 3°, 5° y 7°

FPP= Fecha probable de parto

**Cuadro 4. Número de animales muestreados en ambas granjas**

PROCEDENCIA	NÚMERO DE ANIMALES				
	Lechones				Marranas
	Semanas de edad				
	1°	3°	5°	7°	
Granja A (vacunación antes del parto 90 días de gestación)	15	15	15	15	15
Granja B (vacunación después del parto- 18 días post parto)	15	15	15	15	15
TOTAL	150 animales				

**3.4.3.- Obtención de las muestras**

Las muestras fueron obtenidas por punción en la vena cava con tubos Vacutainer sin anticoagulante (entre 5 y 7 ml). Se obtuvieron 75 sueros porcinos de cada granja. Se rotuló cada muestra con la edad del animal, identificación de la granja y fecha de extracción. Estos sueros fueron primero conservados en refrigeración y transportados en cajas de ternopor; y luego guardadas en congelación a – 20 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Virología de la FMV-UNMSM.

### 3.4.4.- Detección de anticuerpos

La detección de anticuerpos contra vPPC fue realizada mediante la prueba de ELISA de Bloqueo, según la técnica descrita en el manual del kit (Bommeli Diagnostic – IDEXX Laboratorios). Brevemente los pasos seguidos:

- a) Preparación de los reactivos:  
Se determinó la cantidad de solución de lavado necesaria para el lavado de las placas. Se diluyó la solución de lavado (CHEKIT – 10X) 1: 10 con agua destilada (1 parte del concentrado con 9 partes de agua). Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (entre 18°C a 25°C).
- b) Dilución, distribución e incubación de las muestras y controles:  
Se agregó 50 *ul* de la solución diluyente en cada posillo de la microplaca y adicionar 50 *ul* de las muestras y de los controles, hasta tener una dilución final de 1:2. Mezcle el contenido en un shaker. Cubrir la microplaca con papel parafina y dejar en incubación, en cámara húmeda durante toda la noche (14-18 horas) a una temperatura de 2º C a 8º C.
- c) Lavado de las microplacas:  
Después de la incubación, se eliminó el contenido y se realizó el lavado tres veces, adicionando 300 *ul* de la solución de lavado previamente preparada.
- d) Distribución e incubación del conjugado (CHEKIT- Anti- vPPC-E2-PO)  
Luego del lavado se añadió 100 *ul* del conjugado en cada posillo, se cubrió la microplaca con papel parafina y se incubó por 30 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente (entre 18°C a 25°C).

- e) Lavado de las microplacas.  
Lo descrito en el paso c.
- f) Adición del sustrato (CHEKIT – TMB)  
Luego del lavado, se añadió 100  $\mu$ l del sustrato en cada posillo, se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y se cubrió con un papel aluminio para mantenerlo en oscuridad.
- g) Adición de la solución de parada (CHEKIT – Stopping- TMB)  
Luego de la incubación se añadió 100  $\mu$ l de la solución de parada en cada posillo para detener la reacción.
- h) Lectura de los resultados  
Los resultados fueron leídos en un espectrofotómetro (lector de ELISA) con un filtro de 450 nm.
- i) Interpretación de los resultados:  
Los resultados fueron analizados usando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{\text{D.O. (Neg.)} - \text{D.O. (Muestra)}}{\text{D.O. (Neg.)} - \text{D.O. (Pos.)}} \times 100 \%$$

Donde:

D.O. (Neg.) = Densidad óptica del control negativo

D.O. (Pos.) = Densidad óptica del control positivo

D.O. (Muestra) = Densidad óptica de la muestra

La interpretación de los resultados es la siguiente:

< 30% = Negativo

30 - 40% = Sospechoso

> 40% = Positivo

En el presente estudio los sueros fueron agrupados de modo arbitrario, de acuerdo al porcentaje de inhibición, como se indica a continuación:

Título alto: Valores de porcentaje de inhibición > 80 %

Título medio: Valores de porcentaje de inhibición entre 60-80 %

Título bajo: Valores de porcentaje de inhibición entre 40-60 %

### **3.5.- Análisis de datos.**

Para medir si existe o no diferencia estadística significativa entre el nivel de anticuerpos y los programas de vacunación en marranas se utilizó la prueba de T de Student para muestras independientes. Esta prueba también fue utilizada para medir si existe diferencia entre los niveles de anticuerpos en las marranas de las dos granjas.

Para medir si existe asociación entre la seropositividad de los lechones y la granja de procedencia se utilizó la prueba de Chi cuadrado. Esta prueba también fue utilizada en las marranas para medir si existe asociación entre la seropositividad y la granja de procedencia.



## V.- RESULTADOS

El 92.5% (111/120) de los lechones de las granjas A y B presentaron anticuerpos pasivos contra el vPPC; no encontrándose diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) entre los resultados de los lechones de ambas granjas. El 100% (15/15) de los lechones de ambas granjas fueron seropositivos en la primera semana de edad (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Número total (n=120) de lechones de diferentes edades estudiados para la detección de anticuerpos pasivos contra el virus de la Peste Porcina Clásica de las granjas A y B, mediante la prueba de ELISA de bloqueo.**

Edad (Sem)	Granja A				Granja B			
	Pos	Neg	Sosp	Total	Pos	Neg	Sosp	Total
1°	15	-	-	15	15	-	-	15
3°	13	1	1	15	15	-	-	15
5°	14	1	-	15	14	-	1	15
7°	15	-	-	15	10	3	2	15
Total	57	2	1	60	54	3	3	60

\* ( $p > 0.05$ )

Sem= Semanas, Pos= Positivo, Neg= Negativo, Sosp= Sospechoso

En el Cuadro 6 se presenta los promedios de los niveles de anticuerpos pasivos contra el vCP en lechones, observándose una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre los resultados de ambas granjas, en la primera y tercera semana de edad. La determinación del coeficiente de variación (CV) de los resultados de

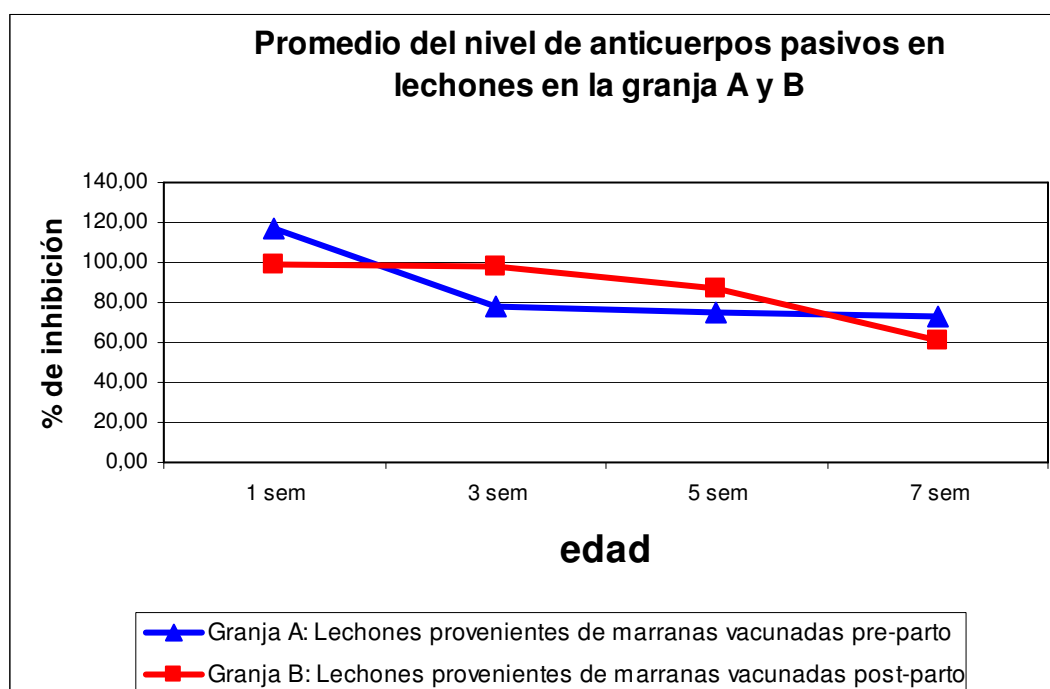
anticuerpos pasivos en lechones por semana de edad en las dos granjas, se observan en el Cuadro 6. Los anticuerpos pasivos contra el vPPC en los lechones de las granjas A y B persistieron hasta la séptima semana de edad (Gráfico 3)

**Cuadro 6. Niveles de anticuerpos pasivos contra el virus de peste porcina clásica, expresados en porcentajes de inhibición (% inh) y su coeficiente de variación (CV) en los lechones según edad (semanas) de las granjas A y B.**

Edad	No. de muestras	Granja A		Granja B	
		Promedio (% inh)	C.V. (%)	Promedio (% inh.)	C.V. (%)
1° sem	15	117.22 <sup>1</sup>	± 20.71	98.93 <sup>2</sup>	± 9.45
3° sem	15	77.97 <sup>1</sup>	± 42.07	98.20 <sup>2</sup>	± 9.93
5° sem	15	75.33	± 30.20	86.53	±22
7° sem	15	73.32	± 26.80	61.11	± 41.29

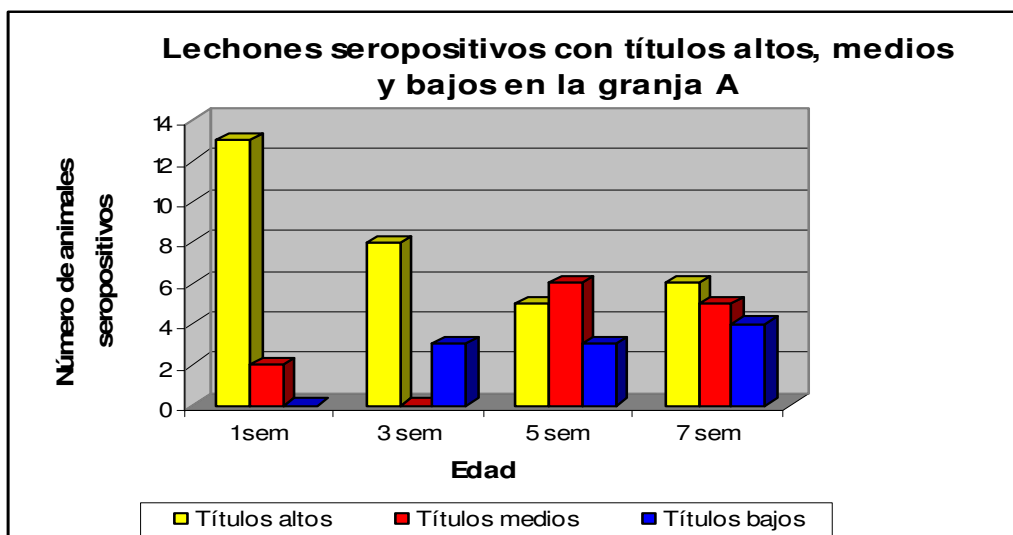
\* <sup>1</sup>, <sup>2</sup> números diferentes indican diferencia estadística significativa (p< 0.05)

**Gráfico 3. Comportamiento del promedio del nivel de anticuerpos pasivos contra el vPPC en lechones de las granjas A y B, expresados en porcentajes de inhibición mediante la prueba de ELISA de bloqueo.**

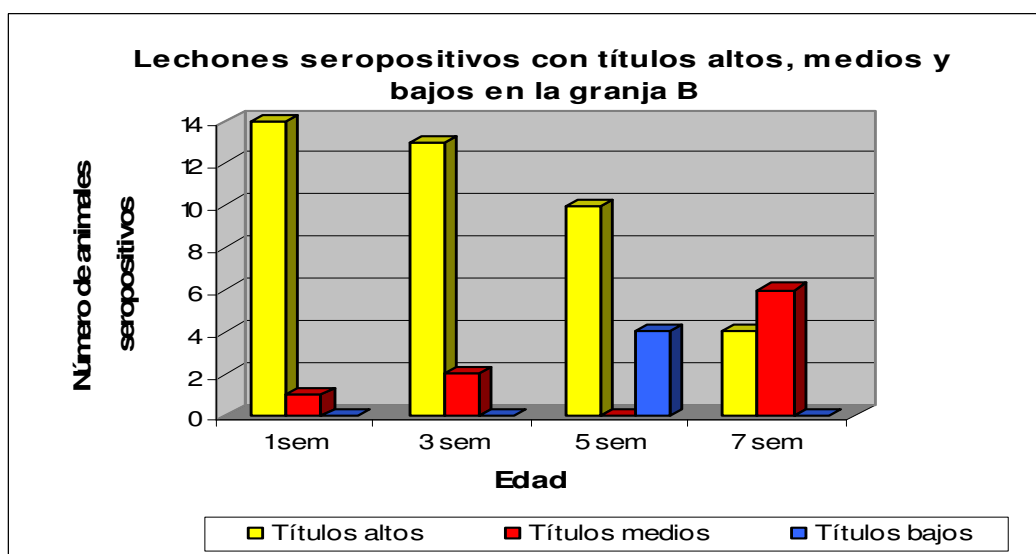


En los gráficos 4 y 5 se presentan el número de muestras positivas a anticuerpos pasivos contra el vCP con títulos altos, medios y bajos.

**Gráfico 4. Número de muestras positivas a anticuerpos pasivos contra el virus de Peste Porcina Clásica en lechones de la granja A (madres vacunadas pre-parto), según edad.**



**Gráfico 5. Número de muestras positivas a anticuerpos pasivos contra el virus de Peste Porcina Clásica en lechones de la granja B (madres vacunadas post-parto), según edad.**



En promedio el 93.33% (28/30) de las marranas muestreadas presentaron anticuerpos contra el vPPC. El 100 (15/15) y el 86.67% (13/15) de las marranas en la granja A y B respectivamente fueron seropositivas, no observándose diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ).

El promedio de los niveles de anticuerpos contra el vPPC en marranas de las granjas A y B, así como su coeficiente de variación se observan en el cuadro 8. No se observándose diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ).

**Cuadro 7. Niveles de anticuerpos contra el virus de Peste Porcina Clásica en marranas de las granjas A y B.**

<b>Granjas</b>	<b>Obs.</b>	<b>Promedio (%inh.)</b>	<b>Des. Est.</b>	<b>C.V. (%)</b>
Granja A	15	89.22	23.5	26.34
Granja B	15	84.93	38.84	45.72

\*( $p > 0.05$ )

## V. DISCUSIÓN

En países donde la enfermedad de la PPC es enzoótica, la principal herramienta de control es la vacunación. La vacunación es importante porque va a proteger a los animales contra la mortalidad. Desde el uso de las primeras vacunas a base de cristal violeta hasta la actualidad, con el uso de vacunas vivas modificadas y marcadas han pasado más de 50 años, demostrando que la vacunación es una medida eficaz para el control de la enfermedad, siendo usada en muchos países donde gracias a los programas de vacunación y erradicación lograron eliminar la enfermedad.

La facilidad de propagación del vPPC y su naturaleza altamente contagiosa de un individuo diseminador a otro susceptible, además de las grandes pérdidas económicas que ocasiona, hacen del PPC una enfermedad de gran importancia sobre todo en granjas porcinas tecnificadas.

El consumo de calostro en lechones es de suma importancia debido a que los anticuerpos pasivos recibidos son esenciales para la sobrevivencia del lechón durante las primeras semanas de vida, ya que estos anticuerpos pasivos no se transmiten a través de la placenta (Van Oirschot, 1986). En el presente estudio, el 92.5% (111/120) tuvieron niveles aceptables de anticuerpos pasivos contra el vPPC, el 3.33% (4/120) y 4.17% (5/120) resultaron negativos y sospechosos respectivamente a la prueba de ELISA de bloqueo; no encontrándose diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) en la seropositividad de los lechones entre

ambas granjas (Cuadro 5), ya que el 100% de los lechones de ambas granjas tuvieron anticuerpos pasivos detectables en la primera semana de edad, este resultado concuerda con lo reportado por Corona *et al.* (1998) quienes encontraron que el 100% de lechones nacidos de marranas vacunadas tienen anticuerpos pasivos en la segunda semana de edad y que fueron disminuyendo conforme aumentaba la edad. Los resultados del estudio corroboran que la transferencia de anticuerpos de marranas a lechones es efectiva y que esta transferencia va a depender del sistema de manejo y del consumo de calostro.

Se detectaron también algunos lechones sin o con bajo nivel de anticuerpos a partir de la segunda semana en la granja A y tercera semana en la granja B (Cuadro 5); estos lechones pudieron haber tenido bajos niveles de anticuerpos que la prueba no lo detectó a pesar de la alta sensibilidad (99%) de la prueba. La no detección de anticuerpos posterior a la primera semana de edad en algunos lechones sugiere que no tomaron suficientes cantidades de calostro y lo poco que tomaron fueron catabolizados rápidamente ya que las marranas de las dos granjas tuvieron anticuerpos con más de 80% de inhibición. Otra posibilidad es que pudieron haber sido lechones con infección persistente ya que en estos casos los anticuerpos pasivos son agotados tempranamente en un intento de remover al virus del torrente sanguíneos (Stevenson, 1999).

Estos animales PI son de importancia epidemiológica, debido a que estos animales son la fuente diseminadora del vPPC en granja. Rivera *et al.* (1999) demostraron en granjas tecnificadas que un 20% de lechones de 1 a 20 días de edad de pobre condición física nacen PI, incrementándose el porcentaje de infección a lo largo de la vida del animal; indicando que existen infecciones pre y post natales con cepas de baja virulencia del vPPC y que el virus persiste en el Sistema Nervioso Central y tejido linfoide. Así mismo en el estudio realizado por Camargo *et al.* (2002) en lechones de 6 a 7 semanas de edad, obtuvieron una frecuencia de 2.3% de animales portadores al vPPC en una granja tecnificada, sugiriendo la existencia de cepas de baja virulencia que son mantenidas en las granjas a pesar de la vacunación. Estos hallazgos sugieren deficiencias en el manejo sanitario de la granja y que sumado a la continua presencia de poblaciones susceptibles favorecerían la persistencia de cepas de baja virulencia.

Se sabe que la protección dada por la ingesta de calostro es directamente proporcional a los niveles de anticuerpos de la madre (Quinlan, 1998) así como la cantidad y calidad de calostro consumido. En el estudio, se observó una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre los niveles de anticuerpos pasivos entre ambas granjas en la primera y tercera semana de edad (Cuadro 6); probablemente esta diferencia se debe por el paso y consumo de anticuerpos pasivos y al hecho que siempre van a existir animales que por motivos propios del lechón como de la marrana darán diferentes niveles de anticuerpos pasivos (Camacho, 2005) y que exista actividad viral en una de las granjas. Precausta *et al.*, (1983) sugieren que el nivel inmune de los lechones se puede atribuir a la calidad de los anticuerpos transmitidos por el calostro.

Esta diferencia estadística es importante sobre todo en la tercera semana de edad cuando los lechones son destetados, ocasionándoles un estrés debido al reagrupamiento que sumado con el cambio de ambiente y alimentación podría ser considerado un factor de riesgo para animales susceptibles de infectarse con el vPPC. Se ha reportado que al momento del destete presentan un decrecimiento de la respuesta a mitógenos *in vitro*, y una menor concentración de anticuerpos (González *et al.*, 1993) sugiriendo una inmunosupresión transitoria (Mc Cauley y Hartmann, 1984), lo cual podría ser aprovechado por el vPPC para ocasionar una infección subclínica, ya que reportes anteriores sugieren que el vPPC está presente en granjas tecnificadas.

Otro aspecto importante del presente estudio fue determinar los coeficientes de variación (CV) de los niveles de anticuerpos en ambas granjas (Cuadro 6). El CV nos indica la proporción de animales con heterogéneos porcentajes de inhibición, donde algunos van hacer muy altos o muy bajos. El CV debería ser tomado en cuenta al momento de fijar los programas de vacunación porque no todas las granjas presentan el mismo comportamiento de anticuerpos pasivos, ya que el presente estudio demuestra que ambas granjas presentaron su propia variabilidad en los niveles de anticuerpos estando influenciados por el sistema de manejo, cantidad y calidad de calostro consumido.

En el Gráfico 3, se aprecia como ocurre el catabolismo de los anticuerpos pasivos, observándose niveles más bajos de anticuerpos pasivos en ambas granjas a partir de la séptima semana de edad. Ya en el año 1978, Launais *et al.* demostraron que conforme aumenta la edad de los lechones los niveles de anticuerpos disminuyen gradualmente. A su vez en el año 2004, Kaden y Lange, en un estudio experimental, determinaron que el nivel y duración de los anticuerpos pasivos dependen de la edad de la madre en el momento de la vacunación.

En el presente estudio se demuestra que a partir de la séptima semana de edad los anticuerpos comienzan a disminuir. Corthier y Charley (1977) encontraron que estos anticuerpos pasivos podrían persistir por más de tres semanas de edad dependiendo de los programas de vacunación en las marranas; pero Vandeputte *et al.* (2001) encontraron que los anticuerpos pasivos pueden persistir hasta la décima semana de edad en lechones nacidos de marranas vacunadas en gestación y que además estos anticuerpos pasivos interfieren con la primovacunación en lechones; sin embargo en el estudio no se pudo seguir monitoreando por más tiempo debido a que ambas granjas se vacuna a los lechones a los 50 días de edad.

El tiempo de persistencia de estos anticuerpos, sin duda, estará en relación al nivel de los mismos que el lechón haya consumido así como a la inmunidad de la marrana, los grupos de lechones que tuvieron bajos títulos de anticuerpos en primera semana de edad, posiblemente tendrían una buena respuesta inmunitaria post vacunal pero los grupos que tuvieron altos y medianos títulos anticuerpos posiblemente la respuesta post vacunal no sea la óptima porque los anticuerpos pasivos pueden interferir con la replicación del virus vacunal ocasionando aunque temporalmente una pobre y lenta respuesta inmunitaria en el animal vacunado (Aynaud, 1988).

En los Gráficos 3 y 4, se observa que los lechones de ambas granjas en la primera semana de edad tienen altos títulos de anticuerpos pasivos, mientras que en la granja B la mayoría de lechones tienen altos títulos hasta la quinta semana



de edad (Gráfico 4) esto mismo no es observado en la granja A (Gráfico 3). Esta diferencia entre los títulos de anticuerpos entre lechones de diferentes granjas, confirma que la duración y títulos altos de anticuerpos pasivos es muy variable entre individuos y granjas (Thacker, 1997); debido a que esta influenciado por el manejo del lechón en el consumo de calostro y la diferencias de absorción propias de cada individuo. En el caso de la granja A, donde el número de animales con títulos altos, medios y bajos son variables, se debe a que posiblemente el virus este circulando dentro de la granja porque no existe una disminución homogénea de estos títulos, sugiriéndonos que se este dando una infección con un virus de campo; en comparación con la granja B donde se observa que los lechones con títulos altos disminuyen de manera uniforme y los títulos medios y bajos aumentan de manera paulatina.

El perfil serológico de las marranas de la granjas A (89.22%) y B (84.93%) indicaron que estuvieron protegidas contra la PPC. Sin embargo se detectaron dos marranas seronegativas en la granja B, una de ellas fue enviada al matadero por problemas reproductivos. Tratándose de la granja B, donde al parecer el sistema de manejo y bioseguridad es mejor, donde el pasaje de anticuerpos pasivos a los lechones fue más uniforme comparado a la granja A, la presencia de marranas seronegativas a pesar de haber sido vacunadas es intrigante, quizás se trató de animales que tuvieron bajos títulos de anticuerpos que no fueron detectados, que durante el muestreo estuvieron inmunosuprimidas ya que una de ellas tuvo anticuerpos en un segundo muestreo, que por error haya transcurrido mucho tiempo entre la última vacunación, etc. Los animales sin anticuerpos post vacunación que al parecer es frecuente (Camargo *et al.*, 2002), podrían ser los responsables de la persistencia del virus en la granja porque serían susceptibles a la infección viral o un portador del virus. La detección de animales sin anticuerpos pre y post vacunación, tiempo de agotamiento de los anticuerpos pasivos entre otros, es posible a través del monitoreo serológico que debería adoptar cada granja porcina para establecer un adecuado programa de vacunación contra la PPC.

En el estudio, no se encontró diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) entre los promedios de niveles de anticuerpos séricos en las marrana (Cuadro 7),

sugiriéndonos que es indistinto vacunar a las marranas antes o después del parto. Observándose variabilidad entre los niveles de anticuerpos séricos contra vPPC en las marranas, debido probablemente a que presentan diversas edades y número de partos. Mierzejewska *et al.* (1977) reportaron que de acuerdo a las condiciones de vacunación de las marranas se van a observar diferencias en las características de anticuerpos pasivos en lechones, como la intensidad del efecto supresor sobre la inmunidad activa y la vida media de los anticuerpos pasivos. También Curtis y Bourne (1971) reportaron que la concentración de anticuerpos séricos en lechones durante sus primeros días de vida exceden a los niveles de anticuerpos séricos de las marranas; corroborando en el presente estudio, debido a que el promedio de anticuerpos de las marranas en ambas granjas (Cuadro 7) es inferior a lo encontrado en los lechones a la primera semana de edad (Cuadro 6). Además, el Cuadro 7 muestra que el CV de las marranas en la granja B es mayor, debido a que se encontraron dos marranas negativas produciendo una mayor variación en el cálculo de CV con respecto a la granja A.

## VII.- CONCLUSIONES

- Los anticuerpos pasivos en lechones nacidos de marranas vacunadas, persistieron por encima de la séptima semana de edad.
- La diferencia en los niveles de anticuerpos pasivos en los lechones de la granja A y B durante la primera y tercera semana de edad fue estadística significativa ( $p < 0.05$ )
- El coeficiente de variación entre los niveles de anticuerpos pasivos en la granja A fue mayor que la granja B, sugiriendo que el sistema de manejo sanitario influye en el comportamiento y niveles de los anticuerpos en los lechones.
- Las marranas tuvieron altos títulos anticuerpos contra el vPPC aunque hubo diferencias entre las marranas de ambas granjas pero esta diferencia no fue estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

## VIII.- RECOMENDACIONES

- Se recomienda que cada granja tenga un programa de vacunación haciendo previamente un monitoreo serológico de sus animales para determinar el momento optimo de vacunación, ya que varios estudios reportan que la persistencia de los anticuerpos pasivos interfieren en la efectividad de la respuesta vacunal.
- Es necesario conocer el coeficiente de variación (CV) en cada granja para poder determinar el momento óptimo de vacunación, ya que mientras más grande sea el CV entre animales más vulnerables serán a la infección. Ya que el estudio demuestra que cada granja tiene su propia variabilidad.
- Es necesario que exista un manejo adecuado del lechón en el consumo de calostro, ya que los lechones van a depender de estos anticuerpos pasivos durante las primeras semanas de vida.

## VIII.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Aoki, H., K. Ishikawa, Y. Sakoda, H. Sekiguchi, M. Kodama, S. Suzuki, A. Fukusho. 2001. Characterization of classical swine fever virus associated with defective interfering particles containing a cytopathogenic subgenomic RNA isolated from wild boar. *J. Vet. Med. Sci.* 63: 751–758.
2. Aoki, H., Y. Sakoda, S. Nakamura, S. Suzuki, A. Fukusho. 2004. Cytopathogenicity of classical swine fever viruses that do not show the exaltation of Newcastle disease virus is associated with accumulation of NS3 in serum-free cultured cell lines. *J. Vet. Med. Sci.* 66: 161– 167.
3. Armengol, E., K. H. Wiesmuller, D. Wienhold, M. Buttner, E. Pfaff, G. Jung, G. A. Saalmuller. 2002. Identification of T-cell epitopes in the structural and non-structural proteins of classical swine fever virus. *J. Virol.* 83:551-560.
4. Aynaud, J.M., M. Launais. 1978. Hog cholera: immunization of young pigs with the Thiverval strain vaccine in the presence of colostral immunity. *Dev Biol Stand.* 41:381-387
5. Aynaud, J.M., 1988. Classical Swine Fever and Related Viral Infections. Martinus Nijhoff, Boston, pp. 165–180
6. Brownlie, J., D.A. Booth, M. E. Stevens, M. E. Collins. 1997. Expressions of noncytopathogenic bovine viral diarrhea virus (BVDV) in oocytes and follicles of persistently infected. *Vet. Record.* 141: 335-337.
7. Camacho, J. 2005. Resumen Noveno Seminario Internacional de Sanidad y Producción Porcina. Lima-Perú. Asociación Peruana de porcicultores: 219-224.

8. Camargo, I., H. Rivera, A. Benito. 2002. Detección de animales portadores del virus del Peste Porcina Clásica en una granja tecnificada del valle de Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 13(1):56-60.
9. Corona, E., D. González-Vega, N. Arriaga, C. Terpstra, A. Morilla. 1998. Serological response of swine vaccinated with classical swine fever virus. *Proceedings of the 14<sup>o</sup> IPVS Congress Bologna. Italy.* 7-10 July.
10. Corthier, G. B. Charley. 1977. Influence of colostral antibodies on pig immunization against hog cholera virus. *Ann. Rech. Vet.* 9: 245-254.
11. Curtis, J., F. J. Bourne. 1971. Immunoglobulin quantitation in sow serum, colostrum and milk and serum of young pigs. *Biochim Biophys Acta.* 236: 319.
12. Díaz de Arce H., 2002. Epidemiología molecular con atención al virus de la peste Porcina Clásica en Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Memorias. 18- 22 de noviembre. La Habana - Cuba.
13. Donnis, R. O. 1995. Molecular biology of bovine viral diarrhea virus and its interactions with the host. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 11:393-402.
14. Dunne, H. 1967. Enfermedades del cerdo. 2<sup>a</sup> Edición. p 153-193. Editorial Hispanoamericana. México.
15. Fauquet, C.M., M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. 2005. Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, p. 16-20.
16. Flores, J. A., A. A. Agraz. 1981. Ganado Porcino: cría, explotación, enfermedades e industrialización. 3<sup>o</sup> Edición. P 696 -705. Editorial LIMUSA. México.

17. Giles C. 1998. Hog cholera. In: US Animal Health Association, Committee on Foreign Animal Disease. Foreign animal diseases: the gray book. Ed 6. Part IV. Richmond, VA: US Animal Health Assoc.
18. Gonzáles, D., I. Cisneros, M. A. Vega, A. Morilla. 1993. Perfil inmunológico de los cerdos durante las primeras diez semanas de edad. Vet. Mex. 24(3): 217-221.
19. Greiser-Wilke I., V. Moennig. Vaccination against classical swine fever virus: limitations and new strategies. 2004. Animal Health Research Reviews. 5 (2) 223-226.
20. Hulst, M. M.; H. G. P. Van Gennip, A. C. Vlot, E. Schooten, A. J. De Smit, R. J. Moormann. 2001. Interaction of Classical Swine Fever Virus with Membrane-Associated Heparan Sulfate: Role for Virus Replication In Vivo and Virulence. J. Virol. 75 (20). 9585-9595.
21. Kaden, V., E. Lange, U. Fischer, G. Strebelow. 2000. Oral immunisation of wild boar against classical swine fever: evaluation of the first field study in Germany. Vet. Microbiol. 73, 239–252.
22. Kaden, V. E. Lange. 2004. Development of maternal antibodies after oral vaccination of young female wild boar against classical swine fever. Vet Microbiol. DTD (5): 1-5.
23. Kummerer, B., G. Meyers. 2000. Correlation between point mutations in NS2 and the viability and cytopathogenicity of bovine viral diarrhea virus strain Oregon analyzed with infectious cDNA clone. J. Virol. 74: 390-400.
24. Kupfermann, H., H. J. Thiel, E. J. Dubovi, G. Meyers. 1996. Bovine viral diarrhea virus: characterization of a cytopathogenic defective interfering particle with two internal deletions. J. Virol. 70, 8175– 8181.

25. Launais, M., J. M. Aynaud, G. Corthier. 1978. Hog cholera virus: Active immunization of piglets with Thiverval strain in the presence and absence of colostral passive immunity. *Vet Microbiol.* 3: 31-43.
26. Leyssen, P., E. De Clero, J. Neyts. 2000. Perspectives for the treatment of infections with *Flaviviridae*. *Clinical Microbiol. Reviews.* 13(1):67-82.
27. Lowings, J.P., G. Ibata, J. Needham, D. J. Paton. 1996. Classical swine fever virus diversity and evolution. *J. Gen. Virol.* 77, 1311–1321.
28. Mc Cauley, I., P. E. Hartmann. 1984. Changes in pigs leucocytes, lymphocytes B and plasma cortical from birth to 3 weeks after weaning. *Res. Vet. Sci.* 37: 234-241.
29. Meyers, G., H. J. Thiel, 1995. Cytopathogenicity of classical swine fever virus caused by defective interfering particles. *J. Virol.* 69, 3683–3689.
30. Mierzejewska, M.; S. Tereszczuk, G. Corthier, J. M. Aynaud, 1977. Hog cholera virus: influence of colostral passive antibody on immune response of pig following vaccination with the rabbit adapted Chinese strain. *Ann Rech. Vet.* 8(3):227-40.
31. Moennig, V. 1992. The Hog Cholera Virus. *Comp. Immunol. Microbiol Infect Dis.* Jul; 15(3):189-201.
32. Moennig, V., 2000. Introduction to classical swine fever virus, disease and control policy. *Vet. Microbiol.* 73, 93–102.
33. Moennig, V., G. Floegel –Niesmann, I. Greiser-Wilke. 2003. Clinical signs and epidemiology of Classical swine fever: A review of new Knowledge. *The Veterinary Journal.* 165: 11-20.



34. Moormann, R.J.M., H. G. P. Van Gennip, G. K. W. Miedema, M. M. Hults, P. A. Van Rijn. 1996. Infectious RNA transcribed from an engineered full-length cDNA template of genome of a Pestivirus. *J. Virol.* 73: 763-770.
35. Moormann, R.J.M., A. Bouma, J. A. Kramps, C. Terpstra, H. J. De Smit. 2000. Development of a classical swine fever subunit marker vaccine and companion diagnostic test. *Vet. Microbiol.* 73, 209–219
36. Muyldermans, G., A. Caij, A. De Smet, F. Koenen, R. Hamers. 1993. Characterization of structural and non-structural proteins of hog cholera virus by means of monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 131: 405-417.
37. Nettleton, P. F., G. Entrican. 1995. Ruminant pestiviruses. *Br Vet J* 151, 615–642
38. OIE. Organización Mundial de Sanidad Animal. 2004. Ficha Técnica de Enfermedades. Peste Porcina Clásica: [http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/A\\_A130.HTM](http://www.oie.int/eng/maladies/fiches/A_A130.HTM). Consultada el 4 de Abril del 2005.
39. Paton, D.J., A. McGoldrick, I. Greiser-Wilke, S. Parchariyanon, J. Y. Song, P. P. Liou, T. Stadjek, J. P. Lowings, H. Björklund, S. Belàk. 2000. Genetic typing of classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 73:137-157.
40. Potgieter, L. N. 1995. Immunology of bovine viral diarrhea. *Vet. Clin North Am: Food animal Practice.* 11(3): 501-520.
41. Precausta, P., F. Kato, A. Brun. 1978. Hog cholera: active immunity conferred by the Chinese strain vaccine to young pigs born to immune sows. *Dev Biol Stand.* 41: 367-79.
42. Precausta, P., F. Kato, A. Brun. 1983. Swine fever. Immunisation of piglets. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 6(4):281-9.
43. Quilan. J. 1998. Delay vaccination. *Pig International.* 28: 5-29.

44. Radostis, O.; C. Bay, D. Blood, K. Hinchcliff. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino. 9ª edición. p 1456-1463. Editorial MacGraw Hill Interamericana. Vol. II. España.
45. Ressang, A. A. 1973. Studies on the pathogenesis of hog cholera. I. Demonstration of hog cholera virus subsequent to oral exposure. Zentbl. Vetmed. Reihe B 20:256-271.
46. Rhodes, S., J. M. Cocksedge, R. A. Collins, W. I. Morrison. 1999. Differential cytokine responses of CD4+ and CD8+ T cells in response to bovine viral diarrhoea virus in cattle. Journal of General Virol. 80: 1673-1679.
47. Rivera, H. 1994. Peste Porcina Clásica: Una Revisión. RIVEP: Julio - Diciembre 1994, Vol. 7 Nº 2. 75-82
48. Rivera, H; R. Angeles, N. Sandoval, A. Manchego. 1999. Persistencia del virus de Peste Porcina Clásica de baja virulencia en el sistema nervioso central de lechones de granjas tecnificadas. Rev. Inv. Vet. 10:1-10.
49. Romero, L., M. Arias, M. Agüero, J. M. Sánchez-Vizcaíno. 1998. Diagnóstico laboratorial de la Peste Porcina Clásica. Porcimundo 47, 51-68.
50. Rümenapf, T., G. Meyers, R. Stark, H. J. Thiel. 1991. Molecular characterization of hog cholera virus. Arch. Virol. (Suppl. 3), 7-18.
51. Rumenapf, T., R. Stark, M. Heimann, H. J. Thiel. 1998. N-terminal protease of pestiviruses: identification of putative catalytic residues by site-directed mutagenesis. J. Virol. 72, 2544– 2547.

52. Sánchez-Viscaino, J.M. 2003. Curso digital de enfermedades infecciosas porcinas. Cdrom y (en línea) <http://www.sanidadanimal.info/curso> . ISBN: 84-688-1585-3. Consultada el 18 de Marzo del 2005.
53. SENASA. 2005. Resumen Noveno Seminario Internacional de Sanidad y Producción Porcina. Lima-Perú. Asociación Peruana de Porcicultores: 62-76.
54. Soos, P., M. Mojzis, A. Pollner, L. Sumeghy. 2001. Evaluation of vaccine-induced maternal immunity against classical swine fever. *Acta Vet Hung.* 49(1):17-24.
55. Stevenson, G.W. 1999. Common Mistkes in Interpretation of Population Serology. *American Association of Swine Practitioners.* 46:339-343.
56. Stark, R., G. Meyers, T. Rümenapf. 1993. Processing of pestivirus polyprotein: cleavage site between autoprotease and nucleocapside protein of classical swine fever virus. *J. Virol*; 67(12): 7088-95 págs.
57. Susa, M.; M. König, A. Saalmüller, M. J. Reddehase, H. J. Thiel. 1992. Pathogenesis of classical swine fever: B-lymphocyte deficiency caused by hog cholera virus. *J Virol.* 66(2): 1171-1175
58. Suradhat, S., S. Damrongwatanapokin. 2003. The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2, infection. *Vet. Microbiol.* 92 (1). 187-194
59. Thacker, E. L. 1997. *Mycoplasma vaccines: What we know, what we don't know.* *Procedings of the Iowa State University Veterinary Medicine Seminar.* 11-13.
60. Terpstra, C., M. J. M. Tielen. 1976. Antibody response against swine fever following vaccination with the C-strain virus. *Z. Vet. Med. B* 23, 809–821.

61. Terpstra, C., R. Woortmeyer, S. J. Barteling. 1990. Development and properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera based on the Chinese strain. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 97: 77-79.
62. Thiel H-J, R. Stark, E. Weiland, T. Rümenapf, G. Meyers. 1991. Hog cholera virus: molecular composition of virions from a pestivirus. *J Virol.* 65:4705–4712.
63. Tizard, I.R. 1999. *Inmunología Veterinaria*. 5° Edición. p 227-239. Editorial Mc Grall-Hill Interamericana. México.
64. Trautwein, G. 1988. Pathology and pathogenesis of the disease, p. 27-54. *In* B. Liess (ed.), *Classical swine fever and related infections*. Martinus Nijhoff Publishing, Boston, Mass
65. Vandeputte, J., H. L. Too, K. Fook, C. Chen, K. K. Chai, G. A. Liao, 2001. Adsorption of colostral antibodies against classical swine fever, persistence of maternal antibodies, and effect on response to vaccination in baby pigs. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1805–1811.
66. Van Bakkum, J.G., 1977. Experience in the Netherlands with the lapinised so-called Chinese (C) strain of vaccine. Eradication of classical swine fever in Hungary. *In: Proceedings of the CEC Seminar on Hog Cholera/Classical Swine Fever and African Swine Fever*. EUR 5904 EN, Hannover, pp. 379–391.
67. Van Oirschot, J.T., C. A. Terpstra. 1977. A congenital persistent swine fever infection. J. Clinical and virological observations II. Immune response to swine fever virus and unrelated antigens. *Vet. Microbiol.* 2, 121-142.
68. Van Oirschot, J.T. 1979a. Experimental production of congenital persistent swine fever infections I. Clinical, pathological and virological observations. *Vet. Microbiol.* 4 (2). 117-132

69. Van Oirschot, J. T. 1979b. Experimental production of congenital persistent swine fever infections II. Effect on functions of the immune system. *Vet. Microbiol.* 4 (2). 133-147.
70. Van Oirschot, J. T. 1986. Hog Cholera. In: *Diseases of swine*. Cap 17. A.D. Leman (ed). 6ta edition. p 289-300. Iowa State University Press. Iowa.
71. Van Oirschot, J. T. 1999. DIVA vaccines that reduce virus transmission. *J. Biotechnol.* 73, 195–205.
72. Van Oirschot, J.T. 2003. Vaccinology of classical swine fever:from lab to field. *Vet. Microbiol.* 96: 367-384.
73. Van Regenmortel, M.H.V., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, M. A. Maniloff, D. J. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle, R. B. Wickner,. 2000. *Virus Taxonomy: The classification and nomenclature of viruses*. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomic of Viruses. San Diego. Academic Press
74. Van Zijl M, G. Wensvoort, E. De Kluiver, M. M. Van Der Gulden, A. L. J. Gielkens, A. Berns, R. J. M. Moormann. 1991. Live attenuated pseudorabies virus expressing envelope glycoprotein EI of hog cholera virus protectss wine against both pseudorabies and hog cholera. *J Virol.* 65(5):2761-2763.
75. Vlasova, A., G. Risatti, T. Grebennikova, A. Zaberezhny, T. Aliper, E. Nepoklonov. 2002. Infectious genomic copy of the Russian vaccine strain of classical swine fever (hog cholera) virus. In: *Proceedings of the International Pigs Veterinary Society*, Ames, p. 323.